

DUDITS DÉNES

A növények szexuális életének molekuláris titkai



*Dudits Dénes
növénygenetikus
az MTA rendes tagja*

A virágok szín- és formagazdaságukkal gyönyörködtenek. Nem csak esztétikai élvezettel szolgálnak, hiszen a bennük megbúvó bibe megporzásából születő magvak a faj fenntartását biztosítják, s egyben az emberi táplálkozás nélkülözhetetlen forrásai is. Az utóbbi évtized molekuláris, sejt- és fejlődésbiológiai kutatásai a növények életciklusának eddig ismeretlen rejtélyeit tárták fel. A virágokban lejátszódó intim események molekuláris háttere megismerésének fontos gyakorlati jelentősége van, hiszen a növénynemesítés a géntechnológiai és genomikai módszerek révén újabb lehetőségekhez jutott a virágzási idő befolyásolására, új növényssaporítási eljárások kidolgozására, a betakarított termés minőségének, táplálkozási értékének javítására.

Bevezetés

Amikor ámulattal csodáljuk a tavasz és a nyár virágainak festői színeit, varázslatos formáit, nemigen gondolunk arra, hogy a búza, kukorica, napraforgó vagy repce virágainak parányi szervei – a termők és porzók – mennyire fontos szerepet játszanak a gazdaember által betakarított termés létrehozá-

1943-ban született Mosonmagyaróváron. 1966-ban diplomázott a Gödöllői Agrártudományi Egyetem Mezőgazdasági Karán. 1972-ben a biológiai tudomány kandidátusa, 1984-ben akadémiai doktora lett, 1990-től az MTA levelező, majd 1995-től rendes tagja.

Pályáját a GATE növénygenetikai és élettani kutatójaként kezdte, 1970-től az MTA Szegedi Biológiai Központ (SZBK) Genetikai Intézetének munkatársa. 1982–1983 között vendégprofesszor Bostonban, illetve a Harvard Egyetem Orvosi Karán, ahol jártasságot szerzett a rekombinációs DNS-módszerek alkalmazásában és a gének izolálásában. 1989–1999 között az SZBK Növénybiológiai Intézetének igazgatója, 1997-től az SZBK főigazgatója.

Számos hazai és nemzetközi tudományos testület tagja, vezetője. Az ICRO Tanács, az Európai Akadémia tagja. Az *Acta Biologica Hungarica*, a *Plant Science*, a *Plant Cell Report*, a *The Plant Journal* szerkesztőbizottságának tagja. 106 tudományos közlemény szerzője.

Főbb kutatási területe: az agrár-biotechnológia, a növényi molekuláris és sejtgenetika, a génátviteli rendszerek kifejlesztése.



Embrió:

a növények korai egyedfejlődési szakaszában a megtermékenyített petesejt, a zigóta osztódásai során kialakuló differenciált szöveti struktúra, amely rendelkezik a kifejlett növény kialakulásához szükséges szövetkezdeményekkel.

Funkcionális genomika:

az egész genomra kiterjedően kapcsolatot teremt a DNS nukleotid-sorrendjében tárolt genetikai információ, valamint a gének működése folytán kialakuló fenotípus között.

Génteknológia:

a rekombináns DNS módszerekkel kialakított, új információt hordozó molekulák létrehozása és beépítése a sejtekbe és a növények génállományába.

Transzgénikus:

izolált, rekombináns DNS módszerekkel módosított DNS sejtbe történő beviteléből származó szervezetek, amelyek új, öröklődő tulajdonságokkal rendelkeznek.

sában. A megtermékenyítésből származó magok az **embrió**val és a tápláló endospermium-szövettel nemcsak a faj fennmaradását biztosítják, hanem nélkülözhetetlen nyersanyagai élelmiszereinknek. A virágok megjelenésével, a magkötéssel beteljesedik a növényi élet ciklusa, és megtérül a növények nevelésére fordított emberi fáradság. A megtermékenyülést és a magérését kísérő biokémiai, élettani folyamatok megismerése, az őket irányító gének jellemzése és izolálása nagy segítség lehet a növénytermesztő és a növénynemesítő számára a termés biztonságos megteremtésében.

A genetikai megközelítések lehetőségei jelentősen kiszélesedtek a **funkcionális genomika** módszertárának létrejöttével. A növényi DNS-állomány szekvenálásával precízebbé váltak a **génteknológiai** beavatkozások, és új koncepciók szolgálják termesztett növényeink emberi célok szerinti nemesítését. A virágzás folyamatát és a termésképződést meghatározó gének szerepéről hasznos információt nyújthatnak a mutáns egyedek, amelyekben egy gén hibás működése folytán a felszínen megjelenő élettani vagy morfológiai sajátosságok megváltoznak.

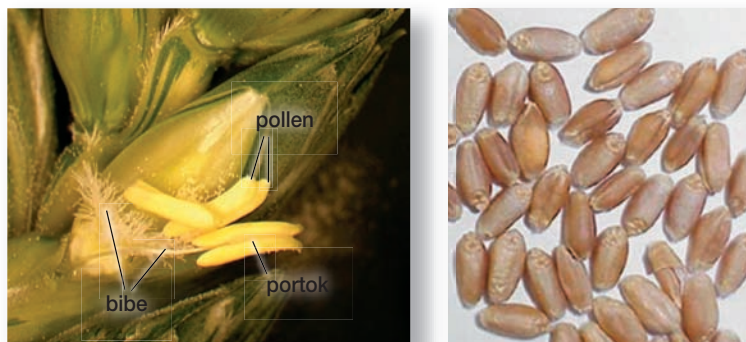
A gének működésének felfüggesztésére, illetve fehérjetermékeik túltermelésére ad lehetőséget az izolált gének beépítése a növények génállományába, az úgynevezett **transzgénikus** növények létrehozása. Ma már a gének izolálása és átalakítás utáni visszaépítése a gazdanövénybe mindennapi gyakorlat a növénybiológiai kutatásban. Érthetőek azok a törekvések, amelyek a hasznos agronómiai tulajdonságot eredményező génbeépítési eredményeket fel kívánják használni a fajtaelőállító növénynemesítésben. Így azok a génteknológiai stratégiák kerültek az érdeklődés középpontjába, amelyek megváltoztatják a virágzás idejét, biztosítják a magok kialakulását kedvezőtlen időjárási körülmények között is, illetve növelik a szemtermés vagy a gyümölcsök tápértékét, azaz innovációs és gazdasági értéket képviselnek. A génteknológiával nemesített (GM) növényfajták térhódítása megállíthatatlan.

A technológiai fejlesztések sikerességének elengedhetetlen feltételét jelentik a színvonalas alapkutatások, amelyek a virágzás és a magképzés folyamatainak mélyreható megismerésével nyújthatnak új ismereteket, hogy termesztett növényeink tulajdonságainak javítása révén segítsék az emberiség élelmiszerigényének kielégítését.



A növények életciklusának fontosabb jegyei a búza példáján

A növények szaporodásbiológiájával foglalkozó vizsgálódásunkat kezdjük a virágok pompájának csodálatával. Képzeld el a liliom hófehér szirmait, amint figyelmünket a barázdált bibére és a portokok gyűrűjére irányítják. Kevésbé látványosak, de az emberi élet szempontjából annál inkább figyelmet érdemelnek termesztett növényeink apró, külsőleg jelentéktelen virágai. Így van ez a mindennapi kenyérünket adó búza parányi kalászkáival is.



1. ábra. Mindennapi kenyérünk
(Wheat: the big picture)

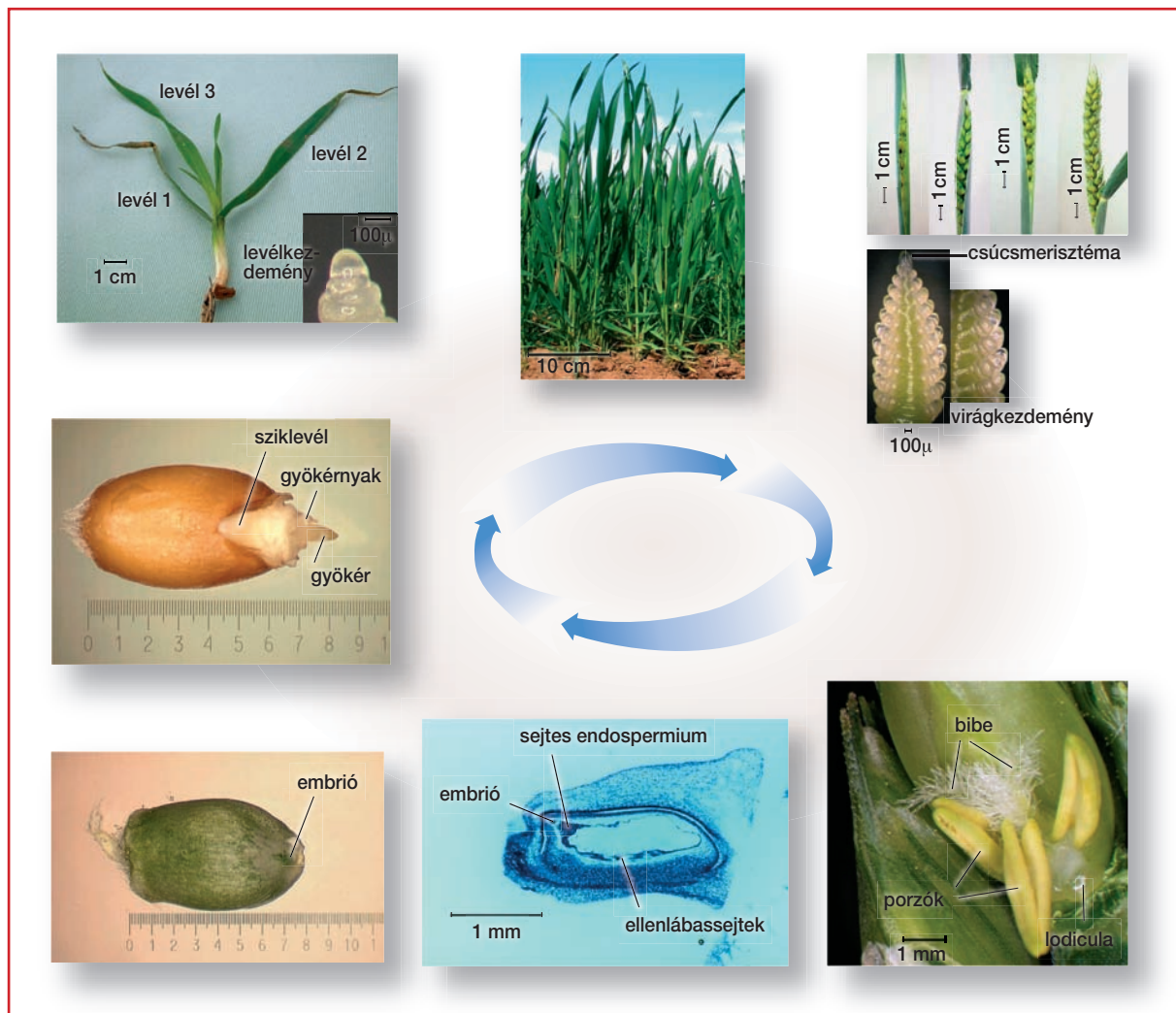
Ha lefejtjük a pelyvaleveleket, csak akkor fedezhetjük fel az ágas-bogas bibe és a körülötte elhelyezkedő portokokat (1. ábra). Az egyszerű külső igen jelentős biológiai folyamatokat takar, amelyeknek végül is az egyik legfontosabb emberi táplálék, a búzaszem létrejöttét köszönhetjük.

Jogosan merül fel a kérdés, hogy mennyire ismerjük a megtermékenyítés és a magfejlődés molekuláris titkait, hiszen a gazdaember majd egyévi munkájának eredményessége függ a szép, egészséges búzaszemek kialakulásától. A megválaszolandó kérdések száma végtelen; a tudomány örök feladata, hogy újabb és újabb módszerek kifejlesztésével folyamatosan bővítse azoknak az ismereteknek a körét, amelyek elősegíthetik a növénytermesztés sikerét. A mostani elemzés néhány kiragadott példával kívánja a molekuláris és sejtbiológia kínálta lehetőségeket szemléltetni.

A 2. ábra képei kiemelik a búza egyedfejlődésének néhány jelentősebb állomását. Folyamatos körforgásról lévén szó, a ciklus kezdetül önkényesen a csírázást választjuk. A földbe kerülő búzaszem nedvességet szív magába, és a nyugalmi állapotú embrió sejtjei megnyúlnak, majd osztódni kezdenek. Eközben az endospermiumban tárolt tápanyagmolekulák biztosítják a növekedésnek indult szervek tápanyagellátását. Megjelenik a gyökér, majd a rügyhüvellyel (koleoptillal) védett rügyecske indul fejlődésnek. A talajból kibújó koleoptil felrepedve utat enged az első levélnek, amelyet a levelek sora követ. A *növekedés vegetatív fázisában* a hajtásmerisztéma osztódó sejtjei szolgáltatják a *levélkezdeményekhez* az új sejteket. A szárba szökkenő búza merisztémájában egy bizonyos számú levélkezdemény kifejlődése után az új oldalmerisztémák már mint *kalászkakezdemények* jelennek meg. Később jól felismerhető a *pelyva és toklász* szöveti differenciálódása. A növények egyedfejlődési stratégiájának jellegzetessége, hogy az utódok létrehozására specializálódó *redukált kromoszómaszámú mikro- és makrospórák* a testi sejtekből alakulnak ki a portokban és a magkezdeményekben. A kiszabaduló pollenszemek a bibére kerülnek és elindítják a **kettős megtermékenyítés** folyamatát. Három nappal a búza-petesejt megtermékenyítése után jól felismerhető a parányi embrió, és megkezdődik a sejtes állapotba került endospermium-szövet kialakulása, illetve láthatjuk a degenerálódó ellenlábás sejteket. A mag kifejlődése során a növény életfunkcióinak középpontjába az utódot szolgáló folyama-

Kettős megtermékenyítés:

a zárvatermőkre jellemző folyamat, melynek során az egyik hím ivarsejt a petesejtet, a másik az embriózsák központi sejtjét termékenyíti meg.



2. ábra. A búza életciklusa (Wheat: the big picture)

tok kerülnek. Szénhidrátok, lipidek és fehérjék felhalmozódását eredményezik az anyagcsere főbb eseményei. Ezek a makromolekulák nagy értéket képviselnek az emberi táplálkozásban. Miután kifejlődött az embrió, és a raktárak feltöltődtek, egy nyugalmi szakasz következik be a növény életében. A búzaszem érésének utolsó fázisában jelentősen csökken a víztartalom, egy védőfunkciót ellátó növényi hormon, az *abszizinsav* szintetizálódik, és védelmet nyújtó fehérjék (hőshock-fehérjék vagy úgynevezett LEA-fehérjék) jutnak szerephez. Ezek biztosítják számos molekula működőképességét a kiszáradt szövetekben a mag nyugalmi állapotában. Erre a védelmi rendszerre esetleg hosszabb ideig is szükség lehet, hiszen igen változó körülmények befolyásolhatják azt az időt, amikor a mag kedvező feltételek között nedvességhez jut, és a csírázással elkezdődhet egy új ciklus.

A búza életciklusát bemutató képeken is láthatjuk, hogy a mikro- és makrospórákat létrehozó ivarszervek a hajtásmerisztémákból kialakuló virágmerisztémában jönnek létre, és nincs elkülönült csírasejtvonal, mint az állatok esetében. Például a zebraháiban már az embriogenezis korai szakaszán felismerhetők az ivarsejtek előfutárai, az *öscsrasejtek*, amelyek az

egész életciklus alatt a testi sejtektől elkülönülő csírasejt-populációt képeznek. Ezek a sejtek rendelkeznek a kromoszómaszámot csökkentő **meiotikus osztódás** képességével, és hozzák létre a petesejtet és a spermiumokat.

Miként dönt a növény a virágzás megkezdéséről?

Régi tapasztalat, hogy a virágok megjelenésének idejét a nappalok és éjszakák hossza, a *fotoperiódus* döntően befolyásolja. *Hosszúnappalos növény* – mint például a lúdfű (*Ababidopsis thaliana* L.) – esetében, ha legalább 18 a nappali órák száma, akkor nincs akadálya a virágzásnak, míg tízórás megvilágítás mellett csak levélrosettát találunk: késik a lúdfű növényeken a virágok megjelenése. Fordított a helyzet a rizs tekintetében, amely *rövidnappalos* növény. A 14 napfényes óra gátolja a bugák kialakulását, míg tízórás megvilágítás mellett gazdag virágzatot hoznak a rizsnövények.

Izgalmas fejlődésbiológiai kérdés, hogy miként érzékelik a növények a nappalok hosszát, és milyen gének és fehérjék játszanak szerepet a virágzás folyamatának elindításában. A virágzási időben megváltozott növények, illetve a hibás, mutáns gének jellemzése vezetett a **constans (CO)** gén kulcsszerepének felismeréséhez. Mielőtt ennek a mestergénnek a hatását tisztáznánk, célszerűt kitérőt tenni és áttekinteni a növényi gének főbb strukturális és funkcionális elemeit.

A leegyszerűsített vázlat három fő részt különít el a növényi gént alkotó DNS-szakaszon belül: 1. a **promoter szakasz**, amely a gén működésének szabályozásáért felelős. A jellegzetes szekvenciamotívumokat, az úgynevezett *cisz elemeket* tartalmazó régióhoz aktiváló vagy gátló fehérjék kötődnek, melyek azt befolyásolják, hogy milyen sejtben, szervben, mikor és milyen erősséggel történjen a gén átíródása (transzkripciója). 2. a *kódoló régió* irányítja a hírvivő mRNS kialakulását, amely alapul szolgál a gén által kódolt fehérje szintéziséhez. 3. a gént lezáró *terminációs jel*. A CO fehérje integráló, koordináló feladatot lát el azáltal, hogy szabályozza bizonyos virágzási gének aktivitását. Mint a 3. ábrán látható, a CO gén működése napszakos ritmust mutat a megvilágítás hosszától függően. A CO fehérje által szabályozott egyik virágzási gén az úgynevezett *FL (Flowering Locus) gén*, amelynek aktivitása csak hosszú megvilágítás mellett teszi lehetővé a virágzást, amihez arra van szükség, hogy elegendő mennyiségben képződjék a CO gén terméke.

A constans gén szerepéről megbízható információval szolgálnak az úgynevezett *transzgenikus növények*. Az egyik beavatkozási lehetőség, hogy az izolált CO gén promoterét lecseréljük egy folyamatosan és erősen működő szabályozó elemmel, majd az így létrehozott kiméra gént visszaépítjük a lúdfű génállományába. Ezt a műveletet nevezzük **genetikai transzformációnak**. A 4. ábra igen érdekes eredményről tájékoztat. A vad típusú, nem transzformált növényekkel összehasonlítva a CO fehérjét nagyobb mennyi-

Meiotikus osztódás:

redukciós sejtosztódás, amelynek során az adott szervezetre jellemző kromoszómaszám a felére csökken.

Constans gén (CO):

a virágzás szabályozásában részt vevő gének működését aktiváló, transzkripciós faktort kódoló gén.

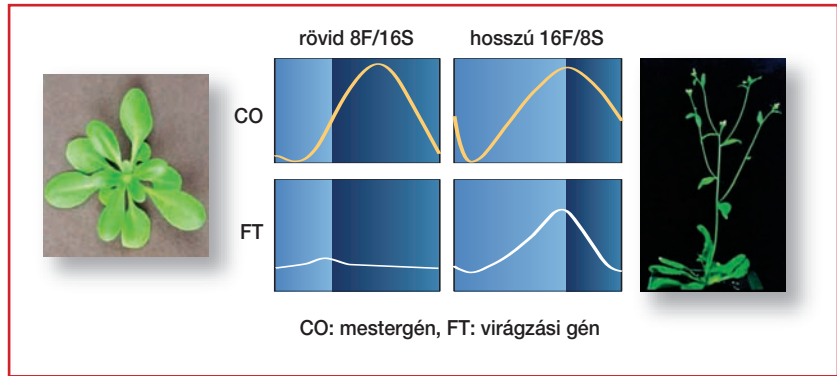
Promoter szakasz:

a gént jelentő DNS-molekula azon része, amely szabályozza a gén átíródásának idejét, erősségét, a sejtekre, szövetekre vagy szervekre jellemző gén működést.

Genetikai transzformáció:

a genetikai információt hordozó DNS-molekula bevitelle sejtekbe vagy élő szervezetekbe. A mesterségesen konstruált gén a genomba történő beépülését követően megváltoztatja a sejtek vagy szervezetek tulajdonságait.

3. ábra. A virágzás idejét meghatározó gének
(M. J. Yanovsky – S. A. Kay, 2003)



GM-növények:

rekombináns DNS-módszerekkel kialakított génstruktúrák beépítésével nemesített növények.

Molekuláris növény-nemesítés:

a rekombináns DNS-módszereket felhasználó fajta-előállító tevékenység, amely tulajdonságokhoz kapcsolt molekuláris markerekkel végzi a szelekciót, vagy izolált gének beépítésével alakítja ki a kívánt tulajdonságokat.

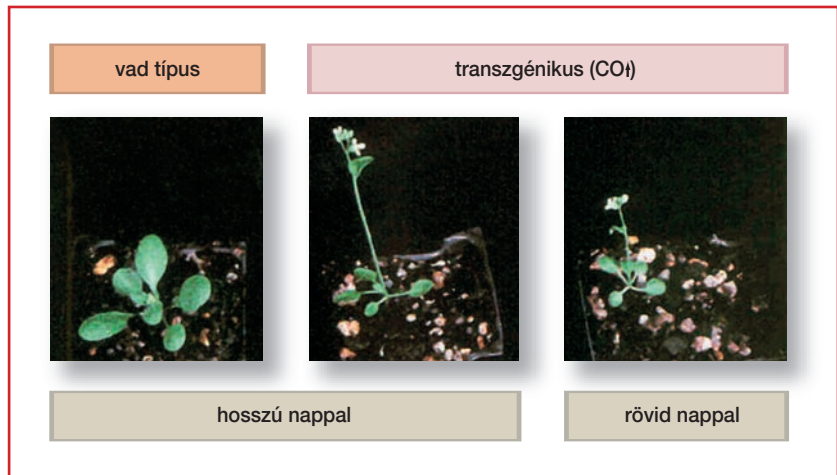
Mutáció:

az öröklődési anyagban ugrás-szerűen végbemenő olyan megváltozás, amely nem genetikai rekombinációval jött létre.

ségben tartalmazó **GM-növény** hosszú nappalon korábban virágzik, és még rövidnappalos megvilágítás mellett is virágot hoz az új, mesterségesen kialakított gént hordozó növény. A lúdfű teszt növényvel kapott eredmények alapvetően új lehetőséget nyitnak a **molekuláris növény-nemesítés** számára, hiszen a virágzás idejének befolyásolása jelentős gazdasági előnyökkel járhat. Gondoljunk arra, hogy az aszály okozta károk mérséklésének egyik lehetséges megoldása az, ha korai növényfajtákat termesztünk, amelyek már túl vannak a virágzás és magkötés fázisán, mire a talaj víztartalékai teljesen kimerülnek.

Tekintettel a fény kiemelt szerepére a virágzás szabályozásában, indokolt a növények fényérzékelő molekuláit felkutatni és a fény által működtetett jelátviteli folyamatokat megismerni. Sok-sok kísérleti tény igazolja a *fitokrómok*, vagyis a fényérzékelő fehérjék központi szerepét. A fitokrómok a vörös, illetve a távoli vörös tartományban képesek fényt elnyelni, és így két, spektrálisan különböző formában léteznek. A fitokróm Pr formája vörös (*red*) fényt, a Pfr formája távoli vörös (*far red*) fényt nyel el. A két forma visszafordíthatóan átalakulhat egymásba. A Pr forma biológiailag inaktív; minden élettani hatásért, mint a csírázás elindítása, a csíranövények zöldülése, a Pfr forma felelős. A hosszúnappalos lúdfű esetében a működőképes fitokróm A fehérje hiányában a mutáns növények később virágoznak. Ezzel szemben a rövidnappalos rizs hosszúnappalos körülmények között is bugát hoz, ha nincs fitokrómfunkció egy **mutáció** (Se5) következtében (5. ábra).

4. ábra. *Constans* fehérje túltermeltetése
(H. Onouchi et al., 2000)



Külön figyelmet érdemel, hogy ezen rizsmutánsok elvesztették fotoperiódus iránti érzékenységüket, és még 24 órás megvilágítás mellett is virágznak. A klímaváltozás körülményei között ezek a kutatási eredmények kiemelt jelentőségűek lehetnek, hiszen a gének ismeretében – a géntechnológia módszereit felhasználva – a növénynemesítő olyan új fajtákat állíthat elő, amelyek eltérő éghajlatú területeken is termesztethetők.

A fény mellett a hőmérsékleti viszonyok szintén döntően meghatározzák a virágzás folyamatát. Fajonként eltérő hőösszeg szükséges a **generatív fázis** megkezdéséhez. Több faj igényli az *alacsony hőmérsékleti hatást*, a *vernalizációt* a virágzashoz. A lúdfű esetében hat héten át tartó +4 °C-os hideg kezelés már biztosítja egy úgynevezett *virágzást gátló fehérje* (FLC) génjének elhallgattatását, és így a virágok megjelenését. Ha mutáció következtében működésképtelenné válik a vernalizációs VRN1 fehérje, akkor hatástalan a hideg kezelés. Ez a fehérje szekvenciától független DNS-kötő képességű, és *megakadályozza a virágzást gátló (FLC) gén működését*. A vernalizáció jelenségének kutatásában egyre inkább az érdeklődés középpontjába kerülnek az úgynevezett **epigenetikus** jelenségek és a kromatin szerkezetét meghatározó fehérjekomplexek (6. ábra). A DNS nukleotidszekvenciájában tárolt genetikai információ mellett jelentősége van azoknak a sejtszintű memóriáknak is, amelyek a sejtosztódások sorozatán át megőrzik a gének aktív vagy inaktív állapotát biztosító molekuláris struktúrákat. A kettős szálú DNS-molekulák a hisztonfehérjékkel *nukleosómába* szerveződve alakítják a *kromatinszerkezetet*, amely lehet nyitott, illetve szorosan összecsomagolt. A kromatin zárt vagy nyitott állapota szerint változik a gének működésének, aktivitásának lehetősége. Mind a DNS kémiai módosítása (metilációja), mind a hisztonfehérjék megváltoztatása (acetilációja) a kromatin át-



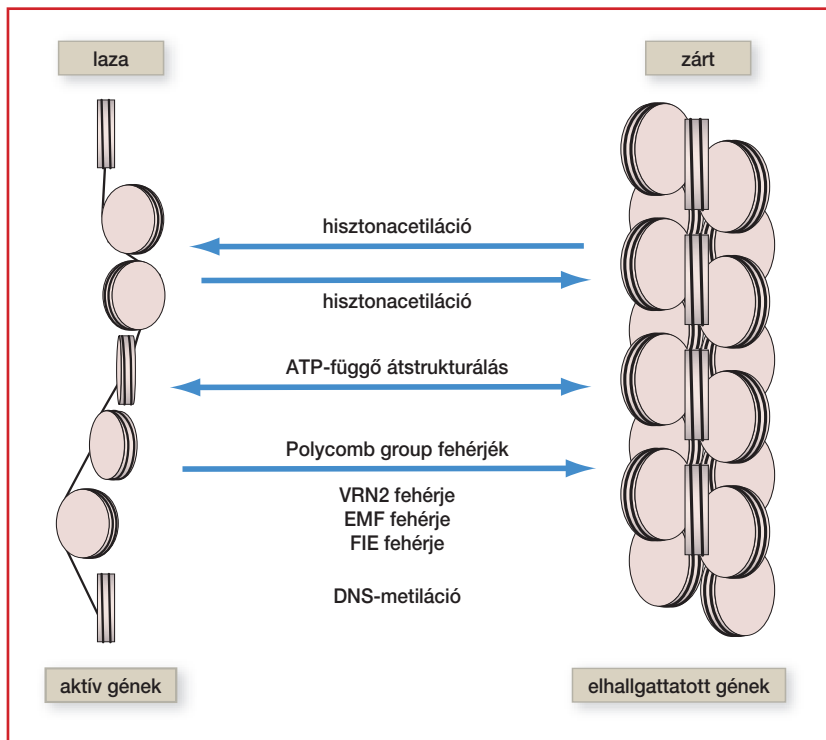
5. ábra. Működőképes fitokrómok hiányában virágzik a rizsnövény (T. Izawa et al., 2000)

Generatív fázis:

a növényi szervezetek ivaros szaporodását biztosító szervek kialakulásával kezdődő egyedfejlődési szakasz, amely magában foglalja a megtermékenyítést és az embrió kifejlődését.

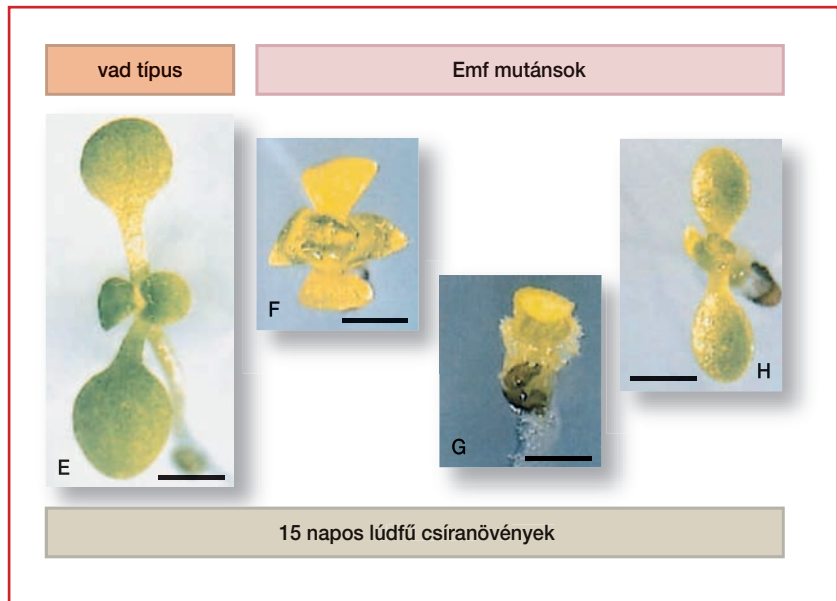
Epigenetikus:

a kromatinszerkezet által meghatározott génműködési állapot, amely néhány generáción keresztül rögzítődik.



6. ábra. Kromatinszerkezet (A. Flans és T. Owen-Hughes, 2001)

7. ábra. Virágzó embriómutánsok
(Y. H. Moon et al., 2003)



Polycomb csoport fehérjéi:

az embrió vagy a szervek kialakulását szabályozó fejlődési gének gátlását biztosító fehérjék, amelyek a transzkripció megakadályozását a kromatin-szerkezet meghatározásával biztosítják.

strukturálódását eredményezheti. Ezen túl speciális fehérjekomplexek, mint például a **polycomb csoport fehérjéit** tartalmazó szabályozók kitüntetett szerepet játszanak a fejlődési gének aktivitásának gátlásában. Így a vernalizációs gének egyike a VRN2 fehérjét kódolja, amely szintén a polycomb csoporthoz tartozó represszor, és részt vesz az FLC gén kifejeződésének gátlásában.

További kísérleti példák is megerősítik, hogy a növény életciklusának vegetatív fázisában, amikor a hajtás növekszik és sorra jelennek meg a levelek, a virágzási program génei gátolt állapotban vannak, és ezen gátlás megszűnése indítja el a generatív fázist, a virágok megjelenését. A 7. ábra egy igen érdekes fejlődési mutáns mutat be. Genetikai hiba következtében a fiatal, 15 napos lúdfű csíranövények a vegetatív növekedési fázis kihagyásával idő előtt hoznak virágot. Ez a „*virágzó embriómutáns*” sokat elárul a növények fejlődési stratégiáját jelentő molekuláris folyamatokról. Miután sikerült izolálni a hibás gént, és kikövetkeztetni a kódolt *EMF* fehérje szerkezetét, kiderült, hogy az is a polycomb csoporthoz tartozik, és szerepe a kromatin átstrukturálódásához köthető.

A virágcsodák mestergénjei

Miután a hajtásmerisztéma átalakult virágmerisztémává, elindul a virág szerveinek kialakulását meghatározó genetikai program. A virágot alkotó szervek körkörös elrendezésben, szigorúan meghatározott számban és helyen alakulnak ki. Kérdés, hogy milyen gének működnek a virágban. A rekombinációs DNS-módszerek számos stratégiát ajánlanak a virágban kifejeződő gének azonosítására. A biológiai rendszer komplexitása szükségessé teszi, hogy átfogó képet nyerjünk a génkifejeződési mintázatról. A *funkcionális genomika* ennek érdekében használja a *DNS-chip technológiát*. A mód-

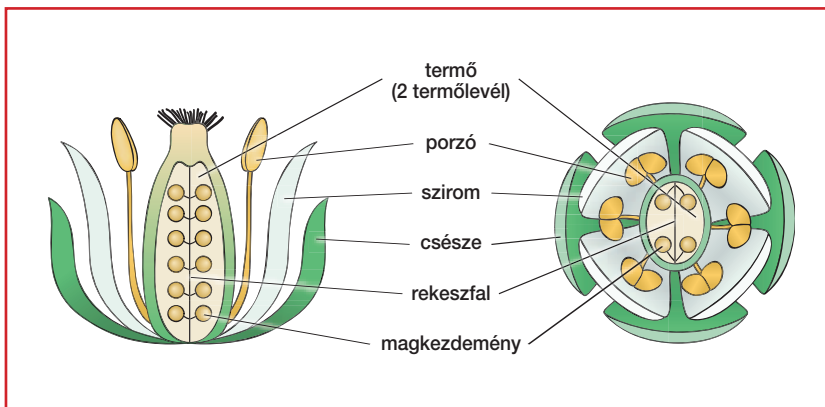
szer lehetővé teszi, hogy egy robot segítségével akár húszezer génmintát is el lehessen helyezni egy mikroszkópi tárgylemezen. A rendszer módot ad a felvitt DNS-minták azonosítására a később elvégzendő hibridizáció után. Ha a levél-, illetve virágspecifikus géneket kívánjuk megtalálni, akkor két-féle fluoreszcens festék jelenlétében a levélből és virágból izolált mRNS felhasználásával úgynevezett kópia-DNS-eket (cDNS) szintetizálunk. A kétféle cDNS-molekula populáció keverékét a tárgylemezen elhelyezett génmintákhoz hibridizáljuk, amikor is a szétválasztott DNS-szálak megtalálják komplementereiket. Ezt követően egy lézerleolvasó azonosítja a fluoreszcens jel alapján, melyek a zölden világító levélspecifikus gének, illetve a pirosan fluoreszkáló virágspecifikus gének. A sárga jelek azokat a géneket mutatják, amelyek mind a két szervben aktívak. Mivel egy nemzetközi genom-együttműködés keretében a lúdfű teljes DNS-állományának meghatározták a nukleotid-sorrendjét, a komputerprogramok segítségével *in silico* megbecsülhető a gének száma. Az *Arabidopsis* hozzávetőlegesen 25 ezer génnel rendelkezik. Tekintettel a virágban működő gének nagy számára, még további kiterjedt kutatásokra van szükség, hogy ezeknek a géneknek a szerepét tisztázni lehessen.

Korábban említettük, hogy a virág szervei igen szigorú rend szerint helyezkednek el, és számuk is fajra jellemző (8. ábra). Az *Arabidopsis* virágműtansok részletes tanulmányozásával fel lehetett térképezni a virágszervekért felelős funkciókat és az azokat meghatározó géneket. Ezek a kutatások igazolták, hogy hasonlóan az állatokhoz, például az ecetmuslicához (*Drosophila*), a morfológiai struktúrákat, a szervek kialakulását, a test formálásának programját a növényekben is az úgynevezett **homeotikus gének** irányítják. A homeotikus mestergénekre jellemző egy 183 bázispárból álló „homeobox” szekvenciaszakasz, amely egy specifikus DNS-kötő képességgel rendelkező polipeptidet, az úgynevezett *homeodomain*t kódolja. A homeotikus gének termékei, hasonlóan más, a génkifejeződés szabályozásában részt vevő fehérjékhez, koordináló szerepet töltenek be. A sejtek helyzetétől függő funkcionális programot határoznak meg azáltal, hogy különböző gének molekuláris kapcsolójaként működnek.

Az *Arabidopsis* virágszerveit érintő homeotikus mutációk alapján három funkció (A, B, C) ismerhető fel. Az A funkcióért felelős gének, mint például az AP2 (Apelata2) gén, a két külső körön elhelyezkedő csésze- és szírom-

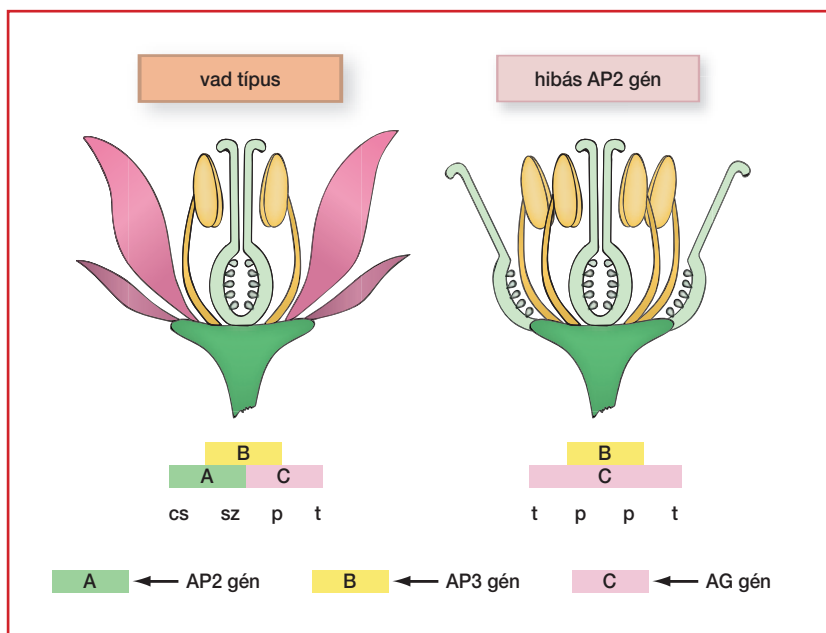
Homeotikus gén:

az egyes szervek, testtájak azonoságáért és helyzetéért felelős gén.



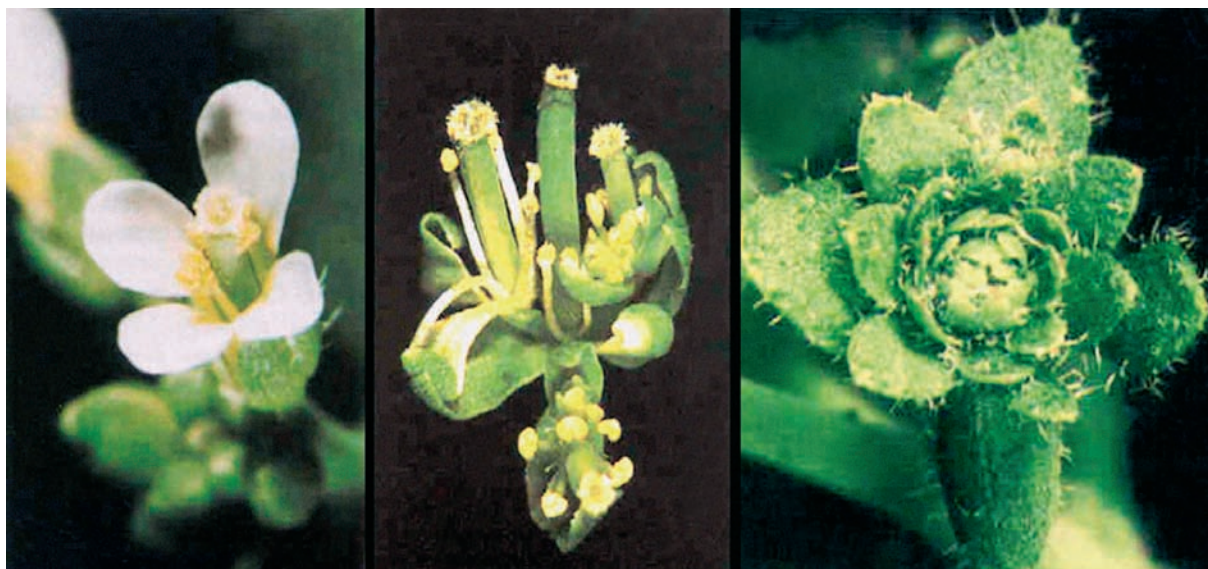
8. ábra. A virág szervei (J. D. Bewley et al., 2000)

9. ábra. *Mester-homeotikus gének szerepe*
(Zs. Schwarz-Sommer, 1993)



levelek kialakulását szabályozzák. Ha mutáció következtében elvész az *A* funkció, akkor termők és porzók jelennek meg a csésze- és szirmlevelek helyén (9. ábra). A *B* funkció génje, például az *AP3* (*Apelata3*) gén, a szirmlevelek megjelenése mellett a porzók kifejlődésének szabályozásában is részt vesz. Az *AP3* gén mutációja folytán termők találhatók a szirmlevelek és porzók helyén. A *C* funkció génje, az *AG* (*Agamous*) gén szükséges a porzók és a termő kialakulásához, mutációja eredményeként a virág csak csésze- és szirmlevelekkel rendelkezik.

10. ábra. *Drasztikus átalakulások a virágfelépítésben a lúdfű homeotikus mutánsaiban*
(D. Weigel et al., C. Gustafson-Brown et al., 1994)

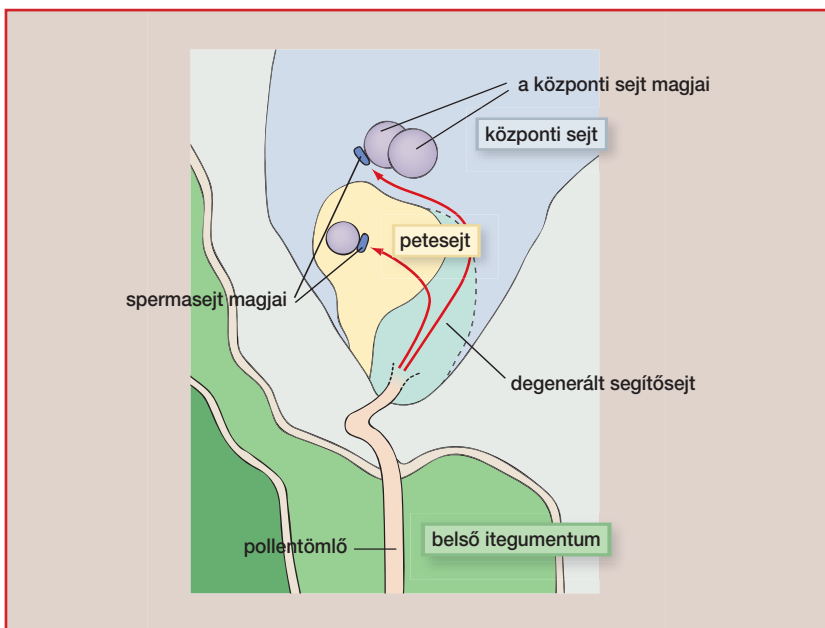


A 10. ábra képei valós megjelenésükben mutatják be a homeotikus mutációk eredményeként kialakult bizzar virágstruktúrákat. A virágok formája és színe természetesen megváltoztatható a homeotikus génekkel végzett génbeépítési kísérletekkel is.

Megtermékenyítés és embriófejlődés in planta és in vitro

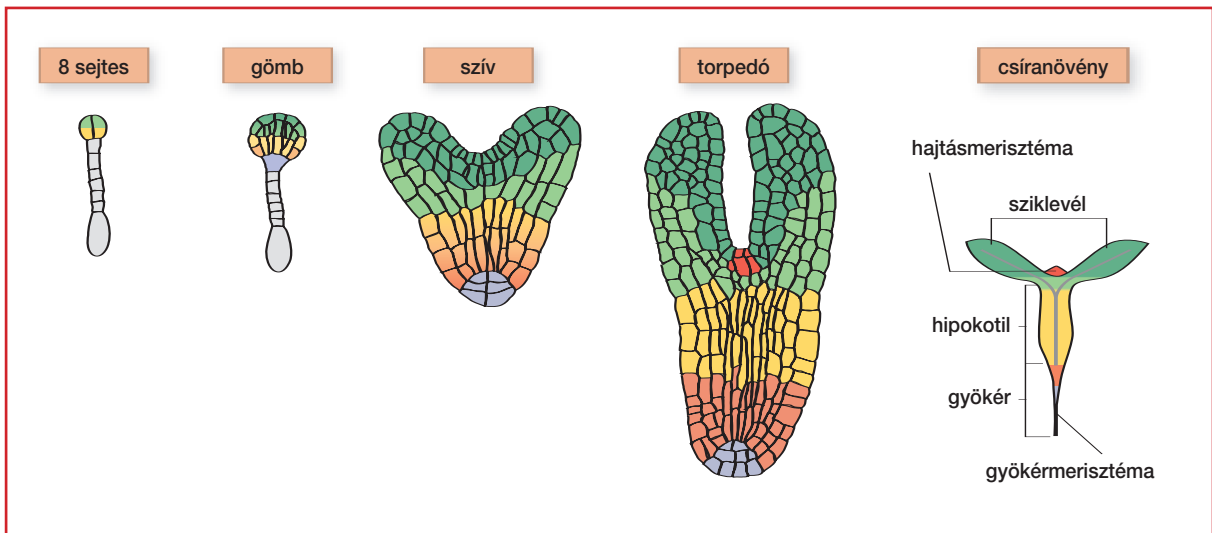
A növényi élet beteljesedésének nagy eseménye a megtermékenyítés és az utódszervezet kialakulása a virág specializált szerveinek és sejtjeinek közreműködésével (11. ábra). A portok belsejében található a spóratermelő archesporium (pollenszák), itt képződnek a mikroszpóra-anyasejtek. A kromoszómák számának feleződéséhez vezető meiotikus osztódás során alakulnak ki a *haploid mikrosporák*, amelyek érése a pollenszemek kialakulásához vezet. A bibére került pollenszemek csírázását követően kifejlődik a pollentömlő, és benne a generatív sejt osztódásával két *spermasejt* és egy *vegetatív mag* jön létre. A női ivarsejtek differenciálódása a virágos növények embriózsákjában zajlik le. Az embriózsák-anyasejt redukciós osztódással makrospórákat hoz létre, melyek egyike lesz az embriózsák-sejt. Ennek magja három osztódási szakasz során teszi lehetővé a *petesejt*, a segítő sejtek és az ellenlábás sejtek kialakulását. A központi sejt magjainak egybeolvadásával az embriózsák másodlagos diploid magja jön létre. A kettős megtermékenyítés egyrészt elvezet a petesejt és a spermasejt magjának egybeolvadásához, és kialakul a diploid kromoszómakészlettel rendelkező *zigóta*. Emellett a másik spermasejtmag fuzionál a központi sejt magjaiból származó másodlagos maggal, és így *triploid endospermium*-sejtmag keletkezik. A megtermékenyítésnek ez a két parallel lejárású folyamata szintén jellegzetesen növényekre jellemző fejlődésbíológiai esemény, amelynek folytatásaként egyidejűleg megy végbe az embrió kifejlődése és a tápláló endospermium-szövet szerveződése.

A megtermékenyítésből származó zigóta szigorúan meghatározott mintázatot követve osztódik és alakul ki, amint ezt az *Arabidopsis* embrió példája



11. ábra. Kettős megtermékenyítés kukoricánál (J. D. Bewley et al., 2000)

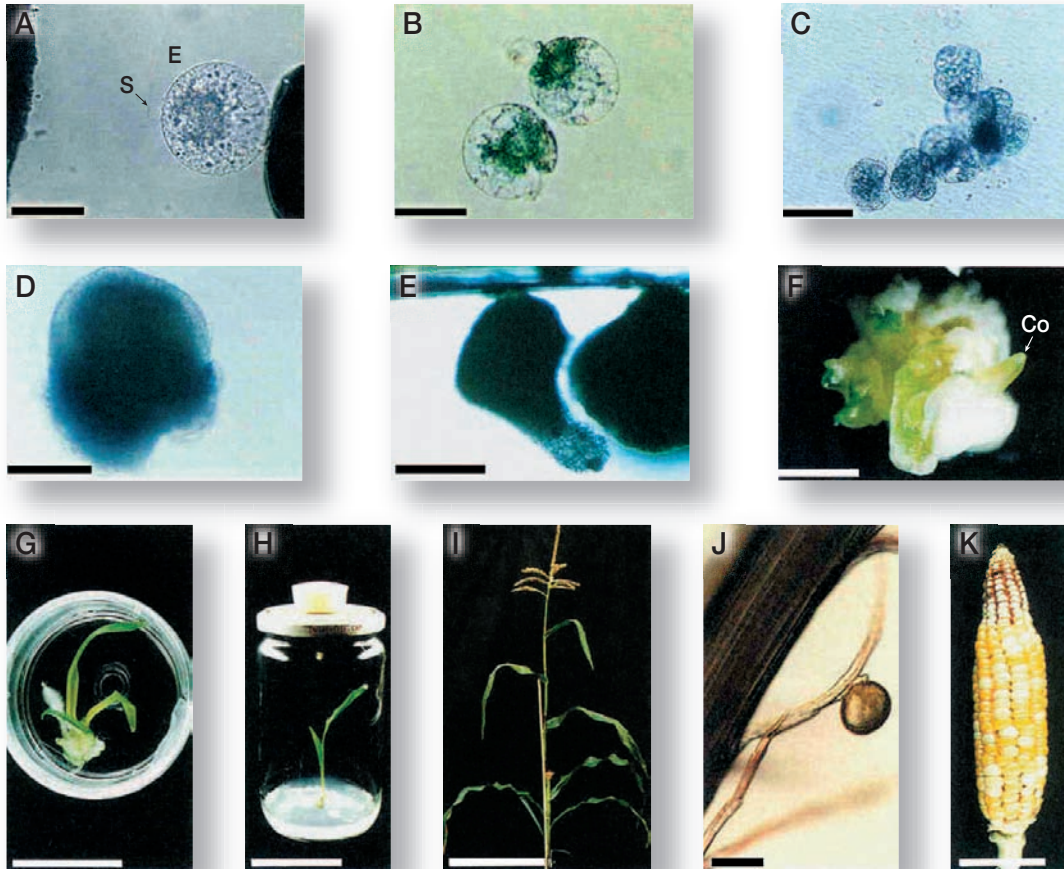
mutatja (12. ábra). A nyolc sejtből álló embrióban már bizonyos morfológiai és funkcionális differenciálódás figyelhető meg. Az alsó csírafüggesztő négy sejtje mellett a későbbi embrió létrehozó sejtek szolgálnak kiindulási alapként az embrió szerveződéséhez. Mint az ábra színei jelzik, a sziklevel eredetét jelentő sejtek már ebben a korai fázisban azonosíthatók. Ugyanígy a hipokotil szövet sejtjei is nyomon követhetők. A szívstádiumú embrióban már felismerhetők a későbbi gyökér sejtjei. A gyökérmerisztéma-sejtek még korábban, a gömbstádiumú embrióban lokalizálhatók. A hajtásmerisztéma sejtjeinek megjelenésével a torpedóstádiumú embrióban már egyértelműen kialakul az a *polaritás*, amely végig, a növény egész élete során jellemzi annak növekedését, és fejlődésének fontos sajátossága.



12. ábra. Lúdfűembrió kialakulása
(mun.ca/biology)

Az egyszikű búza vagy kukorica esetében a korai embriógenézist kísérő sejtosztódási mintázat nem olyan szabályos, mint azt az *Arabidopsis* példáján láttuk. A búzaszem kialakulásának későbbi szakaszában az embrió már nagyobb méretű, és az endospermium sejtfallal rendelkező sejtekből épül fel. Mind az embrió gyarapodása, mind az endospermium feltöltődése meghatározó jelentőségű a termés mennyisége és minősége szempontjából. A növény a magas biológiai értékű, illetve energiát hordozó molekulákat a termésben halmozza fel, és így az utód igényeinek kielégítése válik a funkciók központi szereplőjévé. A fotoszintetikus folyamatok során képződött szacharóz a fejlődő magba szállítódik, és az invertáz enzimek által végzett hidrolízisből származó glukóz építőelemként szolgál a keményítősintézishez. Mind az *amilóz*, mind az *amilopektin* szénhidrát nemcsak élelmiszerként, hanem ipari nyersanyagként is felhasználható. A termés biológiai és élelmezési értékét a raktározott fehérjék mennyisége és aminosav-összetétele határozza meg. A szállító edénynyalábon a nitrogén aszparagin és glutamin aminosavak formájában kerül a fejlődő magba. A búzaszem raktározott fehérjéi közül a prolaminok vízben oldódnak, kénben gazdag változatuk a g-gliadin. A nagy molekulatömegű, úgynevezett HMW fehérjék jelentősen befolyásolják a kenyér sütőipari sajátosságait.

Fejlődésbiológiai és biotechnológiai szempontból figyelmet érdemelnek a növényi lombikbékik előállítására tett sikeres kísérletek (13. ábra). A pe-

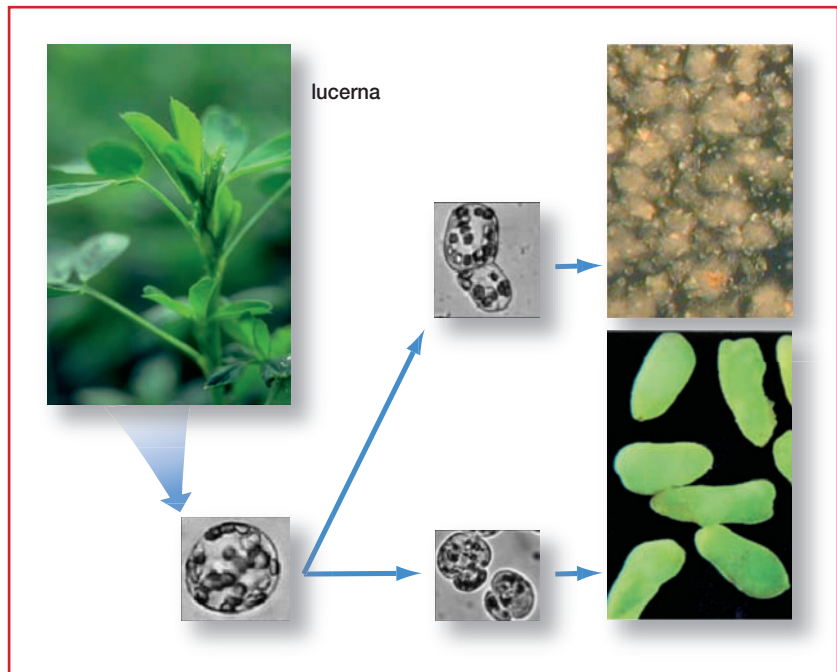


13. ábra. Kukorica-lombikbéli
(E. Kranz – H. Lörz, 1993)

tesejt és spermasejt elektromos sokkal kiváltott fúziójával mesterséges körülmények között létrehozható a zigóta, amely többször osztódik, és így fejlődik ki mesterséges táptalajon az embrió, amelyből aztán teljes értékű kukoricanövény nevelhető fel. Ez az *in vitro* rendszer lehetőséget nyújt az embriogenezis igen kezdeti folyamatainak tanulmányozására, továbbá alapot szolgáltat új genetikai beavatkozásokhoz, akár a kromoszomális, akár a citoplazmás tulajdonságok jobbítása érdekében.

Növényi embriók megtermékenyítés nélkül

Az egyedfejlődési stratégiák összevetésekor korábban már rámutattunk néhány, csak a növényekre jellemző folyamatra. Ezek sora bővíthető azzal az érdekességgel, hogy véglegesen differenciálódott testi, úgynevezett szomatikus sejtekben – például a levélsejtekben – elindítható az embriogenezis programja, és úgynevezett szomatikus embriók nevelhetők fel teljesen függetlenül az ivaros megtermékenyítés eseményeitől. A növényeknek ez a



14. ábra. Embriófejlődés
levélsejtekből

képessége valóban egyedülálló fejlődésbiológiai rejtély, melynek molekuláris háttere kevésbé ismert. A jelenség szorosan összefügg a növények stresszhatásokkal szembeni védekezésével. Mintha egy túlélési stratégia részeként a növény gondoskodni próbálna utódok létrehozásáról akkor is, ha nincs lehetőség a virágzásra. A szomatikus embriogenezis jelenségét először sárgarépa sejt kultúrákban figyelték meg. A lucerna példáján vázoljuk a folyamat néhány kulcslépését (14. ábra). A levélből enzimekkel kiszabadított mezofill sejt igen komoly stresszhatásnak és sérülésnek van kitéve, hiszen emésztéssel eltávolítjuk a sejtfalat. Így jön létre az úgynevezett **protoplaszt**, amelyet csak membrán határol. A tenyésztés során hamar újraszintetizálódik a sejtfal, és a növényi hormon hatására a sejtek osztódni kezdenek. Ebben a folyamatban kiemelt szerepe van egy *auxinanalógnak*, a 2,4-diklorfenoxiacetsavnak (2,4-D). Alacsony koncentrációban adva ezt a növekedést szabályozó vegyületet, a sejtek megnyúlnak, a kloroplasztiszok épek maradnak, és az osztódás során keletkező közel egyforma leánysejtek további osztódásaik során organizálatlan, úgynevezett *kalluszsövetet* hoznak létre. Ezzel szemben magas dózisu 2,4-D hatására a sejtek sűrű citoplazmájában a kloroplasztiszok gyorsan degenerálódnak, és *aszimmetrikus osztódás* következik be, hasonlóan a zigóta első osztódásához. Az így kialakuló polaritás alapot ad az embriogenezis folyamatának megvalósulásához, egészen hasonló fejlődési fázisokat követve, mint ami az ivaros megtermékenyítésből származó embriók esetében figyelhető meg. A **szomatikus embriókból** közvetlenül növényeket nevelhetünk fel az *in vitro* tenyésztetekben, illetve felhasználhatók *mesterséges magok* előállítására. Többféle technológiát is kidolgoztak az ilyen embriók vetőmagként történő felhasználására. Az egyik eljárással a szomatikus embriók kiszáríthatók, majd becsomagolhatók vagy gél anyagba ágyazhatók. A mesterséges magok használata különösen nagy értékű növények esetében lehet gaz-

Protoplaszt:

sejtfalától megfosztott élő baktérium-, gomba- vagy növényi sejt, amely külső sejtmembránnal határolt, és így részese lehet fúziós folyamatoknak, illetve DNS-molekulák felvételének.

Szomatikus embrió:

szomatikus, testi sejtekből kialakuló, megtermékenyítésből származó embriókhoz hasonló differenciált szöveti struktúra.

daságos. A növények **klónozásának** ez a módszere szerepet kaphat például a *heterózishatás* rögzítésében, hiszen az ivaros megtermékenyítés megkerülésével fenntartható a heterozigóta állapot.

A növényeket tanulmányozó molekuláris és sejtbiológusok széles körű kutatásokat végeznek annak tisztázására, hogy milyen folyamatok vezetnek a testi sejtek átprogramozásához és az egyedfejlődési program újraindításához. Nyilvánvalóan nagyszámú gént érint a szomatikusból az embriogén sejtállapotba történő átmenet. A stresszreakciók szerepe mellett elengedhetetlen a sejtek osztódásának aktiválása. Több kísérleti eredmény is felhívja a figyelmet a kromatin szerkezetében bekövetkező átrendeződések jelentőségére. Valóban meglepő furcsaságokkal is találkozhatunk. Egyetlen homeotikus gén, a **Wuchsel-gén** működésének átmeneti felfokozása a transzgénikus lúdfűnövényben csodát művel, és a *gyökércsúcsok helyén embriók jelennek meg* (15. ábra). Ez a gén természetes szerepében a hajtás- és virágmerisztémában, illetve az embriózsákban fejeződik ki, továbbá szerepet tulajdonítanak a Wuchsel-fehérjének a sejtek típusának, sorának meghatározásában.

Nemcsak embriók, de endospermium is kialakulhat megtermékenyítés nélkül bizonyos gének hibás működése következtében. Ha tudatosan keresünk olyan mutánsokat, amelyek kasztrált, porzóatlanított virágaiban magkezdemények találhatók, akkor azok különösen érdekesek lehetnek az ivaros folyamatok mélyebb megismerése szempontjából. Egy mutáns lúdfű becőtermésében megporzás nélkül kifejlődő magkezdemények tüzetesebb vizsgálata kimutatta, hogy a mutáció következtében endospermium fejlődhet ki. Az is megfigyelhető, hogy embrió nem alakul ki a „*megtermékenyítés nélküli endospermium*”, az úgynevezett *fie* mutánsban. Ma már az *Arabidopsis* mutánsok génjei a molekuláris genetikai markerek, és a genomszekvencia-adatok alapján azonosíthatók. Így derült fény arra, hogy a *fie* fehérje (Fertilization Independent Endospermium) szintén a *polycomb* csoport tagja, és a kromatin zárt struktúrájának fenntartásában van szerepe. Így egy újabb példával gazdagodtunk, amely megerősíti, hogy a növényi fejlődési program megvalósulásában a kromatinszerkezeti változások kiemelt fontosságúak.



15. ábra. Gyökércsúcs helyén embriók (J. Zuo et al., 2002)

A bibe és a portok világától az egészséges élelmiszerekig

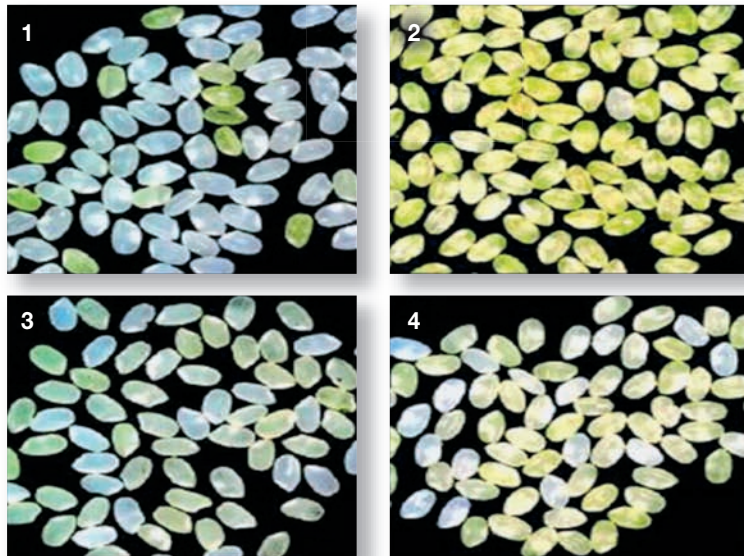
A virágzást, a megtermékenyítést és a magkifejlődést megvalósító molekuláris folyamatok áttekintésének befejezéséként érdemes végiggondolni, hogy a növények ivarszerveiben lezajló események milyen sokféle hatással vannak mindennapi életünkre. A táplálékként elfogyasztott növényi szervek milyensége közvetlenül befolyásolhatja egészségi állapotunkat. Egyre tudatosabban törekszünk élelmiszereink biológiai értékének javítására. A fejlődő világ népei súlyos betegségektől szenvednek a szegényes táplálko-

Klónozás:

egyetlen egyedből vagy annak testi sejtjéből ivartalan úton megvalósuló szaporítási folyamat, amely genetikailag azonos utódok kialakulását eredményezi.

Wuchsel-gén:

homeotikus gén, amely a hajtás- és virágmerisztémában aktív, és átmeneti fokozott működése szomatikus embriók megjelenéséhez vezethet a gyökércsúcsban.



16. ábra. Béta-karotint termelő arany rizs (X. Ye et al., 2000)

zás következményeként. A vas vagy a vitaminok hiánya népbetegségek okozója lehet. Így a növény-nemesítés kiemelt feladata, hogy természetett növényeinket jobbjítsa az egészségesebb élelmiszerek biztosítása érdekében. Ezeket a törekvéseket teszi eredményesebbé a géntechnológia és a génbeépítéssel létrehozott GM-növények alkalmazása.

A génszűrés felhasználó transzgénikus stratégiák közül igazi sikertörténet a rizs β -karotin-tartalmának növelése (16. ábra). Az A-vitamin elővitaminjának szintézisében több enzim és azok génjei vesznek részt. Az Ingo Potrykus által vezetett kutatócsoport a karotinszintézis három génjét hordozó génkonstrukciókat állított elő. Miután ezeket a géneket beépítették a rizsbe, a mesterségesen összeépített DNS-molekulák működőképes enzimek szintézisét biztosították a rizsszemekben. Így jött létre az úgynevezett *aranyrizs*. Ha elterjed ennek az új genotípusnak a termesztése, akkor remény lehet arra, hogy az A-vitamin-hiány előidézte bajok, mint például a gyermekkori vakság, kevesebb szenvedést okoznak. Kész géntechnológiai stratégiák, sikeres kísérletek igazolják, hogy gének beépítésével javítható a tokoferolok E-vitamin-hatása vagy növelhető a növények C-vitamin-tartalma.

Az előzőekben számos fontos alapkutatási eredményről esett szó. A jelentős szellemi és anyagi erőforrásokat igénylő, sokszor nemzetközi összefogással megvalósuló kutatómunka nem öncélú. Az új ismeretek végső soron életünk minőségének javítását szolgálják, és remény van arra, hogy az emberiség élni is fog a kínálkozó lehetőségekkel, hiszen a környezetbarát mezőgazdasági gyakorlat és az egészséget óvó élelmiszerek megtermelése egyaránt igényli olyan növények nemesítését, amelyek kedvező tulajdonságaik révén segítik ezen célok megvalósulását.

Ajánlott irodalom

- Bewley, J. D. – Hempel, F. D. – McCormick, – Zambryski, P.: Reproductive Development. In: Buchanan, B. – Gruissem, W. – Jones, R. (szerk.): Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000: 988–1043.
- Dudits Dénes: Új korszak a növénybiológiában és -nemesítésben. In: *Magyar Tudomány*, 2000/5: 537–554.
- Dudits Dénes: A génkutatás – genomika szerepvállalása a növények nemesítésében. In: *Magyar Tudomány*, 2003/10: 1263–1272.
- Dudits Dénes – Heszký László: Növényi biotechnológia és géntechnológia. 2., átd., bőv. kiad. Bp.: Agroinform, 2000
- Dudits Dénes: A sejtszótódás, differenciálódás és az egyedfejlődési program szabályozásának molekuláris alapjai. In: Balázs Ervin – Dudits Dénes (szerk.): Molekuláris növénybiológia. Bp.: Akadémiai K., 1999: 249–298.
- Fehér A. – Pasternak, T. P. – Dudits D.: Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. In: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003/74: 201–228.
- Gustafson-Brown, C. – Savidge, B. – Janofsky, M. F.: Regulation of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA 1. In: *Cell*, 1994/76: 131–143.
- Izawa, T. – Oikawa, T. – Tokutomi, S. – Okuno, K. – Shimamoto, K.: Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). In: *The Plant Journal*, 2000/22: 391–399.
- Kranz, E. – Lörz, H.: In vitro fertilization with isolated, single gametes results in zygotic embryogenesis and fertile maize plants. In: *The Plant Cell*, 1993/5: 739–746.
- Levy, Y. Y. – Mesnage, S. – Mylne, J. S. – Gendall, A. R. – Dean, C.: Multiple role of Arabidopsis VRN1 in vernalization and flowering time control. In: *Science*, 2002/297: 243–246.
- Moon, Y. H. – Chen, L. – Pan, R. L. – Chang, H. S. – Zhu, T. – Maffeo, D. M. – Sung, Z. R.: EMF genes maintain vegetative development by repressing the flower program in Arabidopsis. In: *The Plant Cell*, 2003/15: 681–693.
- Ohad, N. – Yadegare, R. – Margossian, L. – Hannon, M. – Michaeli, D. – Harada, J. J. – Goldberg, R. B. – Fischer, R. L.: Mutations in FIE, a WD polycomb group gene, allow endosperm development without fertilization. In: *The Plant Cell*, 1999/11: 407–415.
- Onouchi, H. – Igeno, M. I. – Périlleux, C. – Graves, K. – Coupland, G.: Mutagenesis of plants overexpressing CONSTANS demonstrates novel interactions among Arabidopsis flowering-time genes. In: *The Plant Cell*, 2000/12: 885–900.
- Schwarz-Sommer, Zs. – Saedler, H. – Sommer, H.: Homeotic genes in the genetic control of flower morphogenesis in Antirrhinum majus. In: Hartley, D. A. (ed.): Cellular Interactions in Development, IRL Press Oxford University Press, 1993: 242–256.
- Walbot, W. – Evans, M. M. S.: Unique features of the plant life cycle and their consequences. In: *Nature Reviews. Genetics*, 2003/4: 369–379.
- Weigel, D. – Meyerowitz, E. M.: The ABCs of floral homeotic genes. In: *Cell*, 1994/78: 203–209.
- Yanovsky, M. J. – Kay, S. A.: Living by the calendar: how plants know when to flower. In: *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 2003/4: 265–275.
- Ye, X. – Al-Babili, S. – Kloti, A. – Zhang, J. – Lucca, P. – Beyer, P. – Potrykus, I.: Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. In: *Science*, 2000/287: 303–305.
- Yu, D. – Kotilainen, M. – Pöllänen, E. – Mehto, M. – Elomaa, P. – Helariutta, J. – Albert, V. A. – Teeri, T. H.: Organ identity genes and modified patterns of flower development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae). In: *The Plant Journal*, 1999/17: 51–62.
- Zuo, J. – Niu, Q. W. – Frugis, G. – Chua, N. H.: The WUSCHEL gene promotes vegetative-to-embryogenic transition in Arabidopsis. In: *The Plant Journal*, 2002/30: 349.

